

幼苗期不同水稻材料应答盐胁迫的生理差异分析

陈观秀¹, 周鸿凯^{1,2}, 王盼盼¹, 许江环¹, 郭海峰¹, 刘梦霜¹, 杨善^{1,2*}

(1. 广东海洋大学 滨海农业学院, 广东 湛江 524088; 2. 国家耐盐碱水稻技术创新中心华南中心, 广东 湛江 524088)

摘要: 为了解耐盐水稻 HD96-1 幼苗期耐盐生理调控特性, 该研究以籼型水稻 HD96-1 (耐盐性强) 和 93-11 (耐盐性弱) 为材料, 采用营养液水培法, 设置 3 种 NaCl 盐浓度 (0、60、120 mmol·L⁻¹), 对 3 叶期幼苗进行了 7 d 盐处理, 测定了两个材料的生长参数和生理生化指标并分析。结果表明: (1) 在盐胁迫下, 水稻幼苗均表现为株高、假茎宽减小, 根冠比增加; 与 93-11 比, HD96-1 株高、茎宽减小幅度小, 根冠比增加幅度高; 地上部和根系干重, HD96-1 增加, 而 93-11 减少。(2) 盐胁迫后, 水稻幼苗的丙二醛 (MDA)、超氧阴离子 (O₂⁻) 和过氧化氢 (H₂O₂) 含量均上升, 但 HD96-1 增幅较 93-11 小。(3) 在盐胁迫下, 水稻幼苗体内的超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化物酶 (POD)、过氧化氢酶 (CAT)、抗坏血酸过氧化物酶 (APX) 的活性, 以及抗坏血酸 (ASA)、谷胱甘肽 (GSH)、脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白的含量均升高, HD96-1 增幅高于 93-11。综上表明, 两个水稻材料幼苗应答盐胁迫的生理机制相似, 差异在于耐盐性强的 HD96-1 应对盐胁迫具有更强的抗氧化与渗透调节能力, 使生长发育受抑制更小。

关键词: 水稻, 幼苗, 盐胁迫, 生理特性, 生长

中图分类号: Q945.78

文献标识码: A

Physiological differences of different rice materials in response to salt stress at seedling stage

CHEN Guanxiu¹, ZHOU Hongkai^{1,2}, WANG Panpan¹, XU Jianghuan¹, GUO Haifeng¹,
LIU Mengshuang¹, YANG Shan^{1,2*}

(1. College of Coastal Agricultural Sciences, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, Guangdong, China; 2. South

China Branch of National Salt-Alkali Tolerant Rice Technology Innovation Center, Zhanjiang 524088, Guangdong, China)

Abstract: In order to investigate physiological characteristics of salt-tolerance rice HD96-1 at seedling stage, indica rice HD96-1 (strong salt-tolerant) and 93-11 (weak salt-tolerant) were used as experimental materials in this study. Three NaCl concentrations (0, 60, 120 mmol·L⁻¹) was set to treat 3-leaf rice seedlings for 7 d using nutrient solution culture method. The growth, physiological and biochemical indexes of two rice cultivars were measured and analyzed. The results were as follows: (1) The plant height and the pseudostem width of two cultivars decreased, and the root-shoot ratio increased under salt stress; Compared with 93-11, the decrease of plant height and pseudostem width of HD96-1 was less, and the increase of root-shoot ratio was higher under salt stress; In addition, the dry weight of above ground and root of HD96-1 increased under salt stress, while that of 93-11 decreased. (2) The malonaldehyde (MDA), superoxide anion (O₂⁻) and hydrogen peroxide (H₂O₂) contents of two cultivars increased after salt stress treatment, of which the increase of HD96-1 seedlings was less than 93-11. (3) The activities of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), catalase (CAT) and ascorbate peroxidase

基金项目: 广东省重点领域研发计划资助 (2020B020219004); 广东省普通高校省级重大科研项目 (2017KZDXM044); 湛江市科技专项资金 (2020A06013); 广东海洋大学博士科研启动费 (060302052011) [Supported by Guangdong Provincial Key Research and Development Program (2020B020219004); Provincial Major Scientific Research Project of Guangdong Province (2017KZDXM044); Zhanjiang Special Fund for Science and Technology (2020A06013); Doctoral Research Start-up Fund of Guangdong Ocean University (060302052011)].

第一作者: 陈观秀 (1997-), 硕士研究生, 研究方向为种业, (E-mail) 1450637036@qq.com;

***通信作者:** 杨善, 博士, 讲师, 研究方向为作物遗传育种, (E-mail) shanyang@gdou.edu.cn

(APX), the contents of ascorbic acid (ASA), glutathione (GSH), proline, soluble sugar and soluble protein were increased in two cultivars under salt stress, of which the increase of HD96-1 was higher than that of 93-11. In conclusion, the physiological mechanisms of two rice seedlings responding to salt stress were similar, but the difference was that HD96-1 with strong salt-tolerance was stronger antioxidant and osmotic regulation ability than 93-11 in response to salt stress, so that growth and development of HD96-1 were less inhibited than 93-11.

Key words: *Oryza sativa*, seedlings, salt stress, physiological characteristics, growth

土壤盐碱化已成为一个世界性难题,在我国东北、华东和华南沿海地区的盐碱化土壤约占全国盐碱化土壤的 15%,是影响地区农作物生产关键的非生物胁迫因素之一 (Kordrostami et al., 2016; 顾晓, 2019; 杨洪涛, 2019)。水稻 (*Oryza sativa*) 是世界上最重要的粮食作物之一,全球超过半数人口以大米为主食。水稻对 NaCl 盐中度敏感,而我国华南滨海地区盐渍地中的盐分主要以 NaCl 为主 (鄂志国和张丽靖, 2010; 王恩旭等, 2016)。由此表明,土壤盐碱化已成为制约我国水稻生产的主要因素之一,严重影响粮食安全 (巫明明等, 2022)。然而,耐盐碱水稻可作为利用盐碱地的先锋作物,不仅可以增加粮食总产量,而且可以提高盐碱地的利用率 (Qin et al., 2020)。因此,探究不同水稻材料应答盐胁迫的生理机制,对耐盐碱水稻新品种选育及其高产高效栽培技术开发具有重要参考与指导意义。

盐胁迫下,植物生长受阻,具体表现为株高变矮、叶片枯黄卷曲、生物量减少 (马帅国等, 2020)。同时,植物机体会受到生理干旱影响、特殊离子毒害以及正常代谢损伤,引起膜脂过氧化,降低清除活性氧 (reactive oxygen species, ROS)、光合速率和抗氧化酶转化能力,严重时还会引起植株死亡 (Rahnama et al., 2010; 孙思淼等, 2020)。为了适应盐碱化生长环境,植物经过漫长进化,形成了一系列生理性调节机制,主要包括渗透调节、ROS 清除系统以及离子调节等 (胡文成, 2017)。在不同盐浓度胁迫条件下,作物体内会迅速合成可溶性糖、蛋白质、脯氨酸、甜菜碱等渗透调节物质,以提高细胞内渗透压,利于从外界吸收水分,缓解生理性缺水 (石婧等, 2020; 颜佳倩等, 2022)。此外,在盐胁迫期间,植物体内过多的 Na^+ 会破坏活性氧清除系统,导致 ROS 物质,如过氧化氢 (hydrogen peroxide, H_2O_2)、超氧阴离子 (superoxide anion, O_2^-) 的增加,造成细胞膜脂过氧化,进而导致丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 大量积累;与此同时,植株体内抗氧化酶活性被激活,消除过量 ROS,从而提高植株耐盐性 (林兵等, 2022)。在水稻中,盐胁迫导致了过氧化物酶 (peroxidase, POD) 与超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 活性、谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 与抗坏血酸 (ascorbic acid, ASA) 含量以及 MDA 和 H_2O_2 含量均会升高,而耐盐水稻材料则表现出更强的清除 ROS 能力 (Hellou et al., 2012; 王俊斌等, 2012)。在水稻生理研究上,常用 K^+/Na^+ 相对含量来判断植株耐盐性强弱,比值越大,耐盐越强 (王旭明等, 2018)。但是,不同部位 K^+/Na^+ 比值差异很大,不能仅以 K^+/Na^+ 比值差异来断定水稻耐盐性强弱。盐胁迫下,水稻根系聚集 Na^+ 最多 (K^+/Na^+ 比值较低),叶片、叶鞘吸收较多 K^+ (K^+/Na^+ 比值较高) 以维持植株正常生理代谢活动 (陈惠哲等, 2007)。针对 K^+ 、 Na^+ 无机离子调控分子机理的研究报道层出不穷,目前在水稻中通过图位克隆的耐盐调控基因 *SKC1* (Ren et al., 2005)、*OsHKT1;1* (Chuamnakthong et al., 2019)、*OsHKT1;5* (Kobayashi et al., 2017), 均与无机离子调控相关。然而,水稻耐盐生理与分子调控机理所涉及的信号转导、生理、生化、代谢调控通路异常复杂,需要化繁为简,由点到面,一步一步深入研究,所以首先对盐胁迫下耐盐水稻表型及其耐盐生理效应进行研究,可为今后解析水稻耐盐调控机制提供理论依据。

HD96-1, 是湛江海河交错潮汐带种植的古老耐盐碱地方稻种,具有耐盐性强、抗病虫害、耐淹等特性。然而,对不同盐浓度胁迫下 HD96-1 与弱耐盐性水稻 93-11 之间的生理调控差异尚不清楚。本文拟以 HD96-1 与 93-11 为材料,测试并分析不同盐浓度胁迫对水稻幼苗生长与生理效应的影响,旨在探究两个水稻材料对不同盐浓度胁迫的生理响应差异,进而揭示耐盐水稻 HD96-1 的生理响应机制,为耐盐水稻种

质创新利用与新品种选育提供理论参考，进一步完善耐盐碱水稻种质资源创新利用和新品种培育技术体系。

1 材料与方法

1.1 试验材料

水稻材料 HD96-1，由广东海洋大学于 1996 年采集，俗称长毛谷、赤禾等，耐盐性强。水稻材料 93-11，又名扬稻 6 号，国审稻 2001002，耐盐性弱。以上水稻材料，由广东海洋大学滨海农业学院提供。

1.2 试验方法

1.2.1 水稻幼苗培养

挑选健康饱满的水稻种子用 3% 的 H_2O_2 浸泡消毒 30 min 后，用蒸馏水冲洗数次，然后将消毒好的种子加上少量蒸馏水放置在 28 °C 的恒温箱中浸种 24 h，之后平铺到浸湿的双层发芽纸的塑料托盘上催芽，在这期间一直保持托盘湿润。5 d 以后，挑选萌发且长势良好的种子移到装有 1 L 的 Yoshida（北京酷来搏科技有限公司，http://www.coolaber.com/Product_List.asp?keyword=Yoshida）营养液的 96 孔黑色水培盒里进行水培。置于 26 °C 的培养间（光照 14 h 和黑暗 8 h）中培养到 3 叶期，每隔 3 d 更换 1 次营养液。

1.2.2 盐胁迫处理

盐浓度筛选试验：当幼苗长到 3 叶期时，用 NaCl（化学纯，西陇化工股份有限公司）配制不同盐浓度的营养液模拟盐胁迫试验。设 0、60、120、180、240 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 5 个 NaCl 浓度，置于 26 °C 的培养间（光照 14 h 和黑暗 8 h）分别处理 7 d；然后，同等培育条件下，全部处理用 NaCl 浓度为 0 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的营养液培育 10 d，观察 96 株水稻幼苗，并统计死苗率，确定适宜的试验盐浓度。

盐胁迫处理试验：当幼苗长到 3 叶期，挑选长势一致的幼苗，设 3 个不同 NaCl 浓度（0、60、120 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ），每个浓度 3 个重复（即 3 个水培盒，每个水培盒种 96 株幼苗），分别处理 7 d 以后进行取样。取样时，分别随机选取不同处理组的 10 株幼苗测定相关农艺性状。每个水培盒剩余约 70 株幼苗，全部剪取其地上部分（包含假茎与叶片）用于各项生理指标的测定试验，同一处理的 3 个重复样品充分混合后，统一装入自封袋中，用液氮速冻，保存在 -80 °C 冰箱中备用。

1.3 各项生长生理指标的测定

1.3.1 生长指标的测定

株高：假茎基部到叶片顶端的长度，刻度尺测量。假茎宽：假茎基部离根 1 cm 处的宽度，不锈钢数显卡尺测量。干重：于烘箱中将称过鲜重的植株烘干，105 °C 放置 30 min，之后用 80 °C 烘干至重量不再改变，使用万分之一分析天平分别称量地上部和地下部干重（屈成等，2018）。每个处理组重复 3 组，每组选取 8 株幼苗，取平均值。

1.3.2 生理指标的测定

水稻生理指标测定主要参照王文龙（2014）、陈建勋和王晓峰（2001）的方法，具体如下：（1）丙二醛（MDA）：硫代巴比妥酸显色法。（2）可溶性糖：蒽酮比色法。（3）可溶性蛋白：考马斯亮蓝 G-250 染色法。（4）脯氨酸：磺基水杨酸法。（5）超氧化物歧化酶（SOD）：氮蓝四唑光还原法。（6）过氧化物酶（POD）：愈创木酚比色法。（7）过氧化氢酶（catalase, CAT）：紫外吸收法。（8）抗坏血酸过氧化物酶（ascorbate peroxidase, APX）：紫外吸收法。（9）过氧化氢（ H_2O_2 ）含量：碘化钾分光光度计。（10）超氧阴离子（ O_2^- ）产生速率：羟胺氧化法。（11）抗坏血酸（ASA）含量：比色法。（12）谷胱甘肽（GSH）含量：二硫代硝基苯甲酸法。

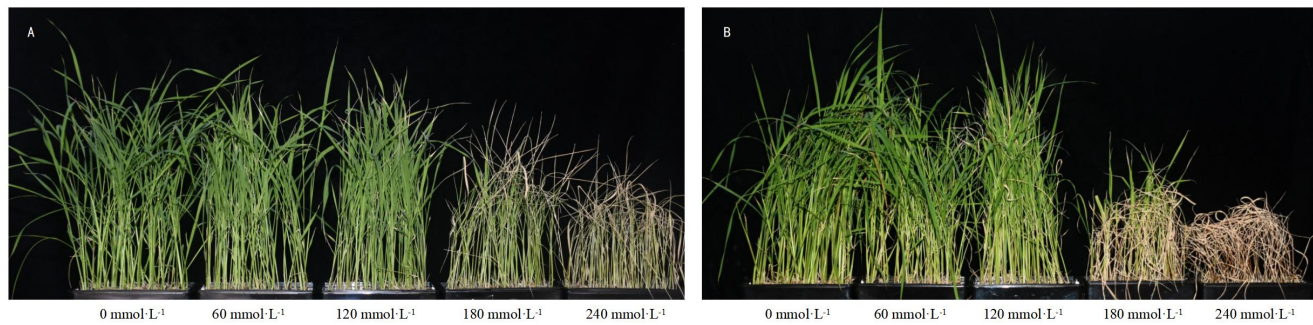
1.3.3 数据处理

试验数据用 Microsoft Excel 2019 软件进行整理，并用 SPSS 25.0 软件进行数据统计分析，采用 Duncan 法对不同处理间各测定指标进行差异显著分析，利用 Pearson 法进行相关性分析（双尾检验），显著性水平为 $P<0.05$ 。最后，用 Origin 2018 软件进行相关图表绘制。

2 结果与分析

2.1 HD96-1 盐胁迫浓度筛选

为了筛选适合 HD96-1 生长的盐胁迫浓度，待幼苗生长至 3 叶期，在 5 个不同 NaCl 浓度（0、60、120、180、240 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ）的营养液处理 7 d 后，接着用不含 NaCl 的营养液进行恢复 10 d。结果如图 1 所示，HD96-1 在各浓度处理后的存活率分别为 100%、95%、83%、30%和 0%。由此表明，存活率大于 50%且适合的盐胁迫浓度为 60、120 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ，后续试验选择这两个盐浓度进行处理。



A. 不同 NaCl 浓度处理 7 d 后的表型；B. 不同 NaCl 浓度处理 7 d 后，用不含 NaCl 营养液恢复培养 10 d 后的表型。

A. Phenotypes after 7 d treatment with different NaCl concentrations; B. After 7 d of treatment with different NaCl concentrations, the phenotype after 10 d of culture is restored with nutrient solution without NaCl.

图 1 不同 NaCl 浓度的处理下 HD96-1 (A) 的表型以及恢复以后的表型 (B)

Fig.1 Phenotype of HD96-1 treated with different NaCl concentrations (A) and phenotype after water recovery (B)

2.2 盐胁迫对水稻幼苗生长参数的影响

与对照（0 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ）相比，两个水稻材料幼苗生长参数对盐胁迫响应有所差异（表 1）。HD96-1 株高、假茎宽下降幅度低于 93-11，盐胁迫对 93-11 幼苗生长影响更显著。60 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl 处理 HD96-1 和 93-11，幼苗株高分别降低了 3.39%和 6.35%；在 120 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl 处理时，分别降低了 11.07%和 20.05%。HD96-1 假茎宽在 60 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 120 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl 处理下较对照分别下降了 6.69%和 7.29%；93-11 假茎宽分别降低了 11.89%和 16.77%，呈显著性差异。

93-11 地上部干重和根系干重显著降低，HD96-1 则与之相反，但不显著，同时两者根冠比也未表现出显著差异。随着盐胁迫浓度升高，与对照相比，HD96-1 地上部干重分别增加了 13.21%和 11.79%，根系干重分别升高了 13.73%和 5.88%；93-11 地上部干重分别降低了 19.58%和 34.39%，根系干重分别降低了 23.26%和 32.56%。HD96-1 和 93-11 根冠比均比对照组增大，但前者在 120 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理比 60 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理有所降低，后者相反，说明了水稻根系对无机离子胁迫应激敏感，而 HD96-1 面对胁迫适应性更强。

表 1 不同盐浓度胁迫下 HD96-1 和 93-11 的生长参数

Table 1 Growth parameters of HD96-1 and 93-11 under different concentrations of salt stress

生长参数 Growth parameter	材料 Materials	浓度 Concentration ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)		
		0	60	120
株高 Plant height (cm)	93-11	22.03±1.89a	20.63±4.16a	18.35±2.49b
	HD96-1	35.42±4.16a	34.22±3.70a	31.50±3.31b
假茎宽 Pseudostem width ($\times 10^{-2}$ cm)	93-11	16.82±0.77a	14.82±1.17b	14.00±1.00b
	HD96-1	16.45±1.71a	15.35±0.91a	15.25±1.00a
地上部干重 Shoot dry weight ($\times 10^{-2}$ g)	93-11	1.89±0.05a	1.52±0.08b	1.24±0.19c
	HD96-1	2.12±0.44a	2.40±0.21a	2.37±0.22a
根系干重	93-11	0.43±0.03a	0.33±0.01b	0.29±0.05c

Dry weight of root system ($\times 10^{-2}$ g)	HD96-1	0.51 \pm 0.10a	0.58 \pm 0.10a	0.54 \pm 0.13a
根冠比	93-11	0.48 \pm 0.01a	0.53 \pm 0.05a	0.57 \pm 0.12a
Root-shoot ratio (%)	HD96-1	0.42 \pm 0.10a	0.56 \pm 0.09a	0.53 \pm 0.08a

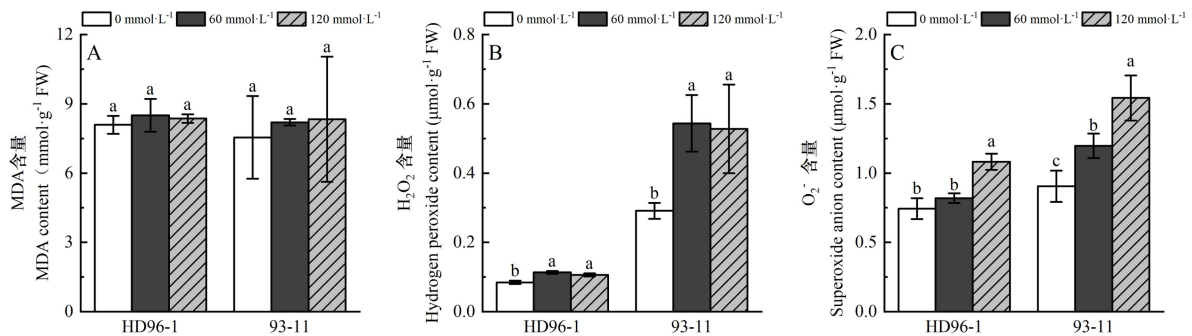
注：同行不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Note: Different lowercase letters on the same rows indicate significant differences ($P < 0.05$).

2.3 盐胁迫对两个水稻材料幼苗生理的影响

2.3.1 对幼苗膜脂过氧化作用的影响

如图 2 所示，在盐胁迫下 HD96-1 和 93-11 幼苗的丙二醛 (MDA)、 O_2^- 及 H_2O_2 含量均有所增加，且 HD96-1 的 O_2^- 产生速率和 H_2O_2 含量低于 93-11。与对照组相比，处理组 HD96-1 和 93-11 的 MDA 含量增幅不大，均无显著差异，但 O_2^- 产生速率均显著增加，其中 HD96-1 分别增加了 10.27% 和 45.61%，93-11 分别增加了 32.26% 和 70.47%。两个水稻材料 H_2O_2 含量均在 60 mmol·L⁻¹ 盐胁迫下含量达到最高，分别增加了 34.20% 和 86.87%，而在 120 mmol·L⁻¹ 盐胁迫下分别增加了 25.21% 和 81.44%。



不同小写字母表示同个水稻材料之间不同处理差异显著 ($P < 0.05$)。下同。

Different lowercase letters indicate significant differences among different treatments of the same material of rice ($P < 0.05$). The same below.

图 2 盐胁迫下两个水稻材料的 MDA (A)、 H_2O_2 (B) 及 O_2^- (C) 含量

Fig. 2 Contents of MDA(A), H_2O_2 (B) and O_2^- (C) in two rice materials under salt stress

2.3.2 对幼苗渗透调节物质的影响

如图 3 所示，HD96-1 和 93-11 幼苗的脯氨酸和可溶性糖含量均随着盐浓度升高而增加，但在 HD96-1 中的增加幅度高于 93-11。相比对照，盐胁迫下 HD96-1 可溶性糖含量达到显著性差异，而 93-11 未达到显著性差异。与对照相比，HD96-1 和 93-11 的可溶性蛋白含量均在 60 mmol·L⁻¹ 盐胁迫下达到最高含量；而在 120 mmol·L⁻¹ 盐胁迫下 HD96-1 可溶性蛋白含量增加了 0.54%，而 93-11 可溶性蛋白含量却显著下降。

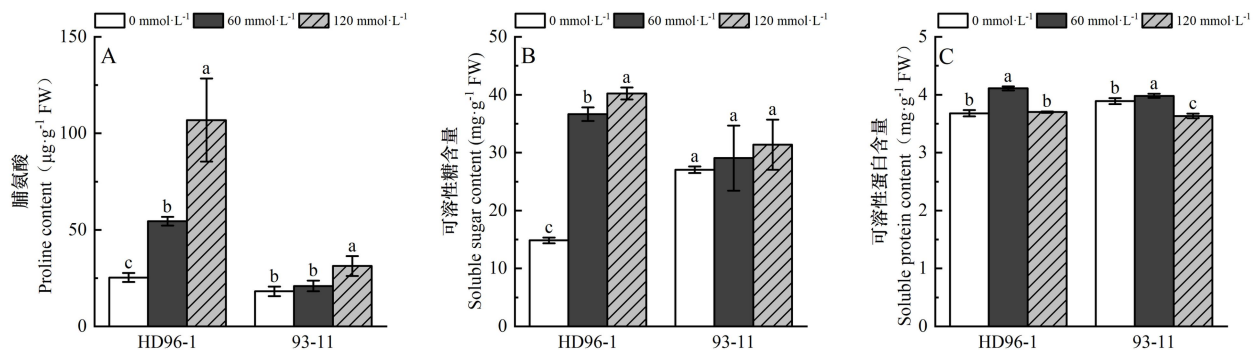


图 3 盐胁迫下两个水稻材料的脯氨酸 (A)、可溶性糖 (B) 及可溶性蛋白 (C) 含量

Fig. 3 Contents of proline (A), soluble sugar (B) and soluble protein (C) in two rice materials under salt stress

2.3.3 对幼苗抗氧化酶的影响

如图 4 所示, 盐胁迫下, 两个水稻材料过氧化氢酶 (CAT)、超氧化物歧化酶 (SOD) 及抗坏血酸过氧化物酶 (APX) 的活性变化趋势相同, 在两种盐浓度胁迫下均显著上升且在 $60 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐胁迫下达到峰值。在 $60 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐胁迫下, HD96-1 的 CAT、SOD、APX 活性分别是对照的 92.53%、26.02% 和 250.77%, 在 $120 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐胁迫下分别是对照的 60.54%、25.47% 和 181.30%; 而 93-11 在 $60 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $120 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐浓度胁迫下, CAT、SOD、APX 活性分别是对照的 43.94%、11.47%、130.77% 和 37.87%、9.95%、79.81%。由此表明, HD96-1 的 CAT、SOD、APX 活性增幅明显高于 93-11。与对照相比, 盐胁迫下两个水稻材料过氧化物酶 (POD) 活性变化较小, 均无显著差异。

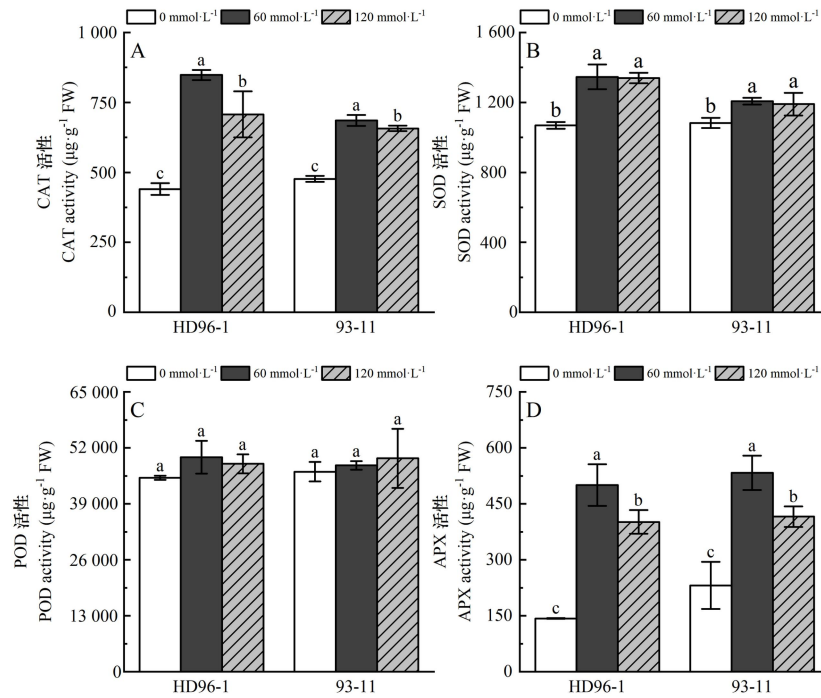


图 4 盐胁迫下两个水稻材料的 CAT (A)、SOD (B)、POD (C) 以及 APX (D) 活性

Fig. 4 Activities of CAT(A), POD(B), SOD(C) and APX(D) in two rice materials under salt stress

2.3.4 对幼苗抗氧化剂的影响

如图 5 所示, 水稻幼苗体内抗坏血酸 (ASA) 含量在盐胁迫下均显著 ($P < 0.5$) 升高, 其中 HD96-1 在两种盐浓度胁迫下的增幅分别为 96.57% 和 87.35%, 93-11 增幅分别为 40.99% 和 56.45%。谷胱甘肽 (GSH) 含量随盐浓度的增加而逐渐升高, 且 HD96-1 在 $120 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐胁迫下呈显著性差异, HD96-1 和 93-11 在两种盐胁迫下的增幅分别为 6.02%、24.95% 和 0.98%、4.34%。由此可知, 两个水稻材料的 ASA、GSH 含量在对照情况下几乎一样, 但在盐胁迫下 HD96-1 的含量均要高于 93-11, 表明盐胁迫下 HD96-1 可以积累更多抗氧化剂来清除体内活性氧。

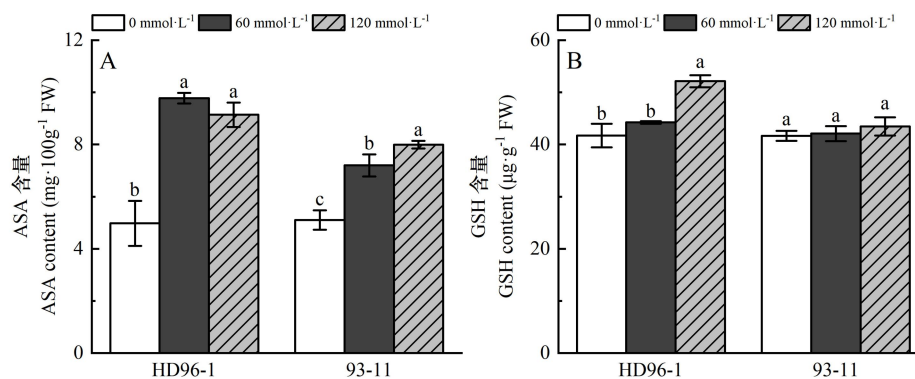


图 5 盐胁迫下两个水稻材料的 ASA (A) 和 GSH (B) 含量

Fig. 5 Contents of ASA(A) and GSH(B) in two rice materials under salt stress

2.4 盐胁迫下水稻幼苗应对胁迫响应各项指标的相关性

Pearson 相关性分析表明，在盐胁迫下水稻幼苗生长指标（地上部干重、根系干重、株高）与 H₂O₂、O₂呈极显著负相关，即 H₂O₂ 和 O₂的含量越高，植株生长越不好。脯氨酸与 ASA、GSH、SOD、APX 呈极显著正相关，可溶性糖与 ASA、GSH、CAT、SOD、APX 呈极显著正相关，即盐胁迫下水稻 CAT、SOD、APX 酶的活性越高、ASA、GSH 的含量越多，脯氨酸和可溶性糖的含量就越高，受到伤害越少。

表 2 生长参数、渗透调节物质和抗氧化系统的相关性矩阵

Table 2 Correlation matrix of growth parameters, osmoregulatory substances and antioxidant system

	I ₁	I ₂	I ₃	I ₄	I ₅	I ₆	I ₇	I ₈	I ₉		I ₁₀	I ₁₁	I ₁₂	I ₁₃	I ₁₄	I ₁₅
I ₂	-0.166															
I ₃	-0.189	0.936**														
I ₄	-0.157	0.825**	0.749**													
I ₅	0.242	0.308	0.178	0.014												
I ₆	0.113	0.573*	0.577*	0.430	-0.070											
I ₇	0.606**	0.190	0.178	-0.078	0.227	0.660**										
I ₈	0.217	0.268	0.235	0.092	0.447	-0.155	0.269									
I ₉	0.527*	0.202	0.229	0.148	-0.166	0.667**	0.836**	0.272								
I ₁₀	0.334	0.369	0.283	0.311	0.049	0.875**	0.669**	-0.215	0.630**							
I ₁₁	0.568*	0.182	0.171	0.109	-0.077	0.461	0.774**	0.494*	0.909**	0.425						
I ₁₂	-0.148	-0.053	0.068	-0.167	-0.389	0.249	0.283	0.090	0.470*	0.076	0.393					
I ₁₃	0.436	0.330	0.296	0.243	-0.090	0.729**	0.841**	0.318	0.930**	0.678**	0.871**	0.324				
I ₁₄	0.479*	-0.136	-0.106	-0.266	-0.135	0.256	0.681**	0.466	0.753**	0.222	0.845**	0.386	0.690**			
I ₁₅	-0.138	-0.066	-0.004	0.097	-0.232	0.169	0.023	-0.054	0.181	0.045	0.199	0.237	0.052	0.203		
I ₁₆	0.262	-0.865**	-0.807**	-0.889**	-0.174	-0.487*	0.017	-0.021	-0.082	-0.375	0.041	0.047	-0.169	0.385	0.025	
I ₁₇	0.415	-0.689**	-0.653**	-0.745**	-0.322	-0.028	0.345	-0.334	0.277	0.140	0.224	0.190	0.166	0.441	-0.132	

注：I₁. 根冠比；I₂. 地上部干重；I₃. 根系干重；I₄. 株高；I₅. 假茎宽；I₆. 脯氨酸；I₇. 可溶性糖；I₈. 可溶性蛋白；I₉. 抗坏血酸；I₁₀. 谷胱甘肽；I₁₁. 过氧化氢酶；I₁₂. 过氧化物酶；I₁₃. 超氧化物歧化酶；I₁₄. 抗坏血酸过氧化物酶；I₁₅. 丙二醛；I₁₆. 过氧化氢；I₁₇. 超氧阴离子产生速率。**. 相关性在 0.01 水平（双尾）显著；*. 相关性在 0.05 水平（双尾）显著。

Note: I₁. Root-shoot ratio; I₂. Shoot dry weight; I₃. Dry weight of root system; I₄. Plant height; I₅. Pseudostem width; I₆. Proline; I₇. Soluble sugar; I₈. Soluble protein; I₉. ASA; I₁₀. GSH; I₁₁. CAT; I₁₂. POD; I₁₃. SOD; I₁₄. APX; I₁₅. MDA; I₁₆. H₂O₂; I₁₇. O₂⁻ production rate. **. The correlation is significant at 0.01 level (two-tailed); *. The correlation is significant at 0.05 level (two-tailed).

3 讨论

在遭受盐胁迫时，植物不能移动，唯有进行适应性调节以抵御盐胁迫所带的损伤，这些适应性调节包括生长发育调节、生理调节（如：离子平衡、渗透调节、营养平衡、活性氧清除等）、转录水平调节、代谢物调节，以及表观遗传学的 DNA 甲基化、小分子 RNA 调节等（Van Zelm et al., 2020）。其中，盐胁迫下植物生长发育的调节最为直观，因此，研究人员常以观察植物表型来判断所遭受的盐胁迫程度，甚至作为评判植物耐盐性的参考指标之一。由于水稻为中度盐敏感植物，盐胁迫下水稻生长发育会明显受到抑制，一般表现为根系生长受抑制、叶片早衰、株高变矮、育性降低等（Jing et al., 2019）。本研究中，盐胁迫下 HD96-1 和 93-11 株高和假茎宽均减小，后者受抑制程度更大。同时，HD96-1 根系干重、地上部分干重、根冠比有所增加，但未达到显著性差异；93-11 根系干重、地上部分干重则显著下降。由此说明，同等盐胁迫条件下两个水稻材料表型产生了一定差异。有研究认为，在低盐胁迫下，耐盐性相对较好的水稻品种，干物质重受影响较小，或有所增加；耐盐性差的品种则下降明显（王洋等，2022；魏征等，2021）。因此，HD96-1 对盐胁迫的适应性与耐受性优于 93-11。究其表型差异之因，可能涉及到信号转导、生理、基因表达、代谢物等多方面的调控机制差异。

本研究从生理方面剖析两个水稻材料应答盐胁迫的差异，包括抗氧化调节、渗透调节。本研究发现，随着盐浓度升高，HD96-1 和 93-11 的丙二醛（MDA）和活性氧（ROS）含量也随之增加，但前者的积累

量小于后者。与汪洪艳等（2019）对‘海稻 86’的研究结果一致。分析其 MDA 和 ROS 增加的原因，可能是由于植物中光能利用和碳同化受到抑制，从而增加了光合链中电子转移到 O_2 的概率，促进了活性氧（ROS）的产生，如 H_2O_2 和 O_2^- ，引起氧化胁迫，MDA 大量聚集，破坏植物膜结构（王洋等，2022）。由此说明，HD96-1 产生的 ROS 较 93-11 少，可能是其光合系统受到抑制较小。为了减少 ROS 积累和修复细胞膜结构，植物活性氧清除系统会迅速反应，快速合成抗氧化物质。活性氧清除系统主要包括酶促系统和非酶促系统，酶促系统主要有 SOD、POD、CAT 和 APX 等抗氧化酶，非酶促系统主要是 ASA、GSH 等抗氧化剂（胡文成，2017）。其中，SOD 是活性氧清除的第一道防线，也是最有效的抗氧化酶，它可以通过歧化作用将 O_2^- 生成为低毒的 H_2O_2 ，接着 CAT、POD 和 APX 将 H_2O_2 分解为 H_2O ，通过这种途径减缓盐分对植株的危害（Bose et al., 2014; Bhatt et al., 2020）。本研究中，盐胁迫下两个水稻材料的 CAT、SOD、APX 活性均表现先升高后下降的趋势，并且 HD96-1 增幅高于 93-11，表明在水稻中 CAT、SOD、APX 活性显著受盐胁迫诱导提高，而且 HD96-1 清除活性氧能力高于 93-11。符秀梅等（2010）也有类似发现，盐胁迫下水稻幼苗期 SOD 与 POD 的活性呈先增加后降低的趋势，但是 CAT 变化无明显规律。此外，植物可以通过抗坏血酸-谷胱甘肽（ASA-GSH）循环系统来清除体内过多的 H_2O_2 含量（申洁等，2021）。本实验中，HD96-1 和 93-11 的 ASA、GSH 含量均有所升高，但 HD96-1 的增幅及含量要高于 93-11。Chawla 等（2013）研究也有相同的发现，盐胁迫下耐盐品种 Pokkali、CSR-1 的 SOD、CAT、POX、APX 的活性，以及 ASA、GSH 含量均高盐敏感品种 IR28、MI-48。因此，进一步表明，盐胁迫下 HD96-1 较 93-11 具有更强的抗氧化调控能力。抗氧化酶活性、ASA 和 GSH 含量均受到上游基因表达的调控，前人有报道对 *OsAPX2*（Zhang et al., 2013）、*OsGSTL2*（Kumar et al., 2013）、*OsGRX1*（Lima-Melo et al., 2016）等基因调控抗氧化物质代谢的功能进行了探究。但是，这些抗氧化物质应答盐胁迫的“信号转导-基因表达-代谢物合成”调控机制仍需要进一步深入研究。

盐胁迫除了会诱导大量 ROS 的产生来引起活性氧清除系统失衡外，还会造成外界环境的渗透势降低，水稻根难以吸收水分，从而造成生理干旱（黄洁等，2020）。在此逆境下，植株通过自身积累渗透调节物质来降低细胞水势，维持正常的细胞膨压。脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白是其体内重要的渗透调节物质。脯氨酸可作为渗透调节物质；也可与一些氧自由基发生反应，清除活性氧；还可氧化产生 ATP 为植物生长提供能量，在生物合成中主要受吡咯酮-5-羧酸合成酶（P5CS）、鸟氨酸转氨酶（OAT）酶调控（汪忠杰，2020）。有研究表明，盐胁迫下，脯氨酸含量与盐胁迫浓度呈正相关，耐盐植物体内的脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白含量大幅度增加（Li et al., 2017; 卢楠楠等，2017）。本研究中，HD96-1 和 93-11 在受到盐胁迫之后，体内积累的脯氨酸和可溶性糖也随着增加，用以维持渗透平衡来抵御盐害，而 HD96-1 合成积累更多渗透调节物质，表现出更强的渗透调节能力。这一结果与 Chen 等（2017）的研究结果相似。Sripinyowanich 等（2013）通过外源 ABA 调控水稻耐盐性研究，发现 *OsP5CS1* 和 *OsP5CR* 均受 ABA 和盐胁迫诱导上调表达，脯氨酸含量也上调，说明盐胁迫下水稻脯氨酸含量受 ABA 诱导调控。然而，de Ollas 等（2015）研究认为，水分胁迫下拟南芥体内脯氨酸合成与体内 ABA 含量无显著性相关。因此，盐胁迫下水稻体内脯氨酸合成调控是否依赖于 ABA 信号调控途径需要进一步试验验证。

4 结论

盐胁迫下，两个水稻材料体内活性氧、丙二醛含量增加，氧化胁迫造成代谢紊乱；同时，渗透胁迫造成生理干旱，使得植株吸水困难，生长受阻，使得株高、假茎宽减小。但是，两个水稻材料应答盐胁迫的生理效应存在差异，HD96-1 具有更强的抗氧化、渗透调节能力，可有效缓解盐胁迫带来的不利影响，使得生长发育受抑制程度小于 93-11。

参考文献：

- BHATT T, SHARMA A, PURI S, et al., 2020. Salt tolerance mechanisms and approaches: Future scope of halotolerant genes and rice landraces[J]. Rice Sci, 27(5): 368-383.
- BOSE J, RODRIGO-MORENO A, SHABALA S, 2014. ROS homeostasis in halophytes in the context of salinity stress tolerance[J]. J Exp Bot, 65(5): 1241-1257.
- CHAWLA S, JAIN S, JAIN V, 2013. Salinity induced oxidative stress and antioxidant system in salt-tolerant and salt-sensitive cultivars of rice (*Oryza sativa* L.)[J]. J Plant Biochem Biot, 22(1): 27-34.

- CHEN HZ, NATALIA L, ZHU DF, et al., 2007. Absorption and distribution of Na^+ and K^+ in rice seedling under salt stress[J]. Chin J Plant Ecol, 31(5): 937-945.[陈惠哲, Natalia Ladatko, 朱德峰, 等, 2007. 盐胁迫下水稻苗期 Na^+ 和 K^+ 吸收与分配规律的初步研究[J]. 植物生态学报, 31(5): 937-945.]
- CHEN JX, WANG XF, 2006. Experimental guidance in plant physiology[M]. Guangzhou: South China University of Technology Press: 54-127. [陈建勋, 王晓峰, 2006. 植物生理学实验指导[M]. 广州: 华南理工大学出版社: 54-127.]
- CHEN RS, CHENG YF, HAN SY, et al., 2017. Whole genome sequencing and comparative transcriptome analysis of a novel seawater adapted, salt-resistant rice cultivar-sea rice 86[J]. BMC Genom, 18(1): 655.
- CHUAMNAKTHONG S, NAMPEI M, UEDA A, 2019. Characterization of Na^+ exclusion mechanism in rice under saline-alkaline stress conditions[J]. Plant Sci, 287: 110171.
- DE OLLAS C, ARBONA V, GÓMEZ-CADENAS A, 2015. Jasmonic acid interacts with abscisic acid to regulate plant responses to water stress conditions[J]. Plant Signal Behav, 10(12): e1078953.
- E ZG, ZHANG LJ, 2010. Molecular mechanism of rice responses to salt stress[J]. Hybridoma, 25(2): 1-5. [鄂志国, 张丽靖, 2010. 水稻盐胁迫应答的分子机制[J]. 杂交水稻, 25(2): 1-5.]
- FU XM, ZHU HL, LI XJ, et al., 2010. Effects of NaCl stress on the growth and physio-biochemical characteristics of rice seedlings[J]. Guangdong Agric Sci, 37 (4): 19-21. [符秀梅, 朱红林, 李小靖, 等, 2010. 盐胁迫对水稻幼苗生长及生理生化的影响[J]. 广东农业科学, 37(4): 19-21.]
- GU X, 2019. Evaluation index system of salt tolerance of rice and comprehensive evaluation of salt tolerance[D]. Haikou: Hainan University. [顾晓, 2019. 水稻耐盐性评价指标体系及耐盐性综合评价[D]. 海口: 海南大学.]
- HELLOU J, ROSS NW, MOON TW, 2012. Glutathione, glutathione S-transferase, and glutathione conjugates, complementary markers of oxidative stress in aquatic biota[J]. Environ Sci Pollut Res, 19(6): 2007-2023.
- HU WC, 2017. Regulatory effects of combined application of SA, proline and GABA on the antioxidant system of rice under salt stress[D]. Harbin: Northeast Agricultural University. [胡文成, 2017. 水杨酸、脯氨酸、 γ -氨基丁酸对盐胁迫下水稻抗氧化系统的调控效应[D]. 哈尔滨: 东北农业大学.]
- HUANG J, BAI ZG, ZHONG C, et al., 2020. Physiological and molecular mechanisms of salt stress tolerance in rice[J]. J Nucl Agric Sci, 34 (6): 1359-1367. [黄洁, 白志刚, 钟楚, 等, 2020. 水稻耐盐生理及分子调节机制[J]. 核农学报, 34 (6): 1359-1367.]
- JING C, BO EC, SIRIA N, et al., 2019. Morphological and metabolic responses to salt stress of rice (*Oryza sativa* L.) materials which differ in salinity tolerance[J]. Plant Physiol Biochem, 144: 427-435.
- KOBAYASHI NI, YAMAJI N, YAMAMOTO H, et al., 2017. OsHKT1;5 mediates Na^+ exclusion in the vasculature to protect leaf blades and reproductive tissues from salt toxicity in rice[J]. Plant J, 91(4): 657-670.
- KORDROSTAMI M, RABIEI B, HSDDSN KUMLEH H, 2016. Association analysis, genetic diversity and haplotyping of rice plants under salt stress using SSR markers linked to *SalTol* and morpho-physiological characteristics[J]. Plant Syst Evol, 302 (7): 871-890.

- KUMAR S, ASIF MH, CHAKRABARTY D, et al., 2013. Differential expression of rice lambda class GST gene family members during plant growth, development, and in response to stress conditions[J]. *Plant Mol Biol Rep*, 31(3): 569-580.
- LI Q, YANG A, ZHANG WH, 2017. Comparative studies on tolerance of rice genotypes differing in their tolerance to moderate salt stress[J]. *BMC Plant Biol*, 17(1): 1-13.
- LIMA-MELO Y, CARVALHO FEL, MARTINS MO, et al., 2016. Mitochondrial *GPX1* silencing triggers differential photosynthesis impairment in response to salinity in rice plants[J]. *J Integr Plant Biol*, 58(8): 737-748.
- LIN B, ZHAO BH, 2022. Research advances of physiological mechanism and genetic improvement in salt and alkali tolerance of rice[J]. *Jiangsu Agric Sci*, 50(16): 37-43. [林兵, 赵步洪, 2022. 水稻耐盐碱生理机制与遗传改良的研究进展[J]. *江苏农业科学*, 50(16): 37-43.]
- LU NN, YAN LH, ZHENG CK, et al., 2017. Effects of salt stress on growth and agronomic traits of Yanfeng 47 and Yanjing 456[J]. *Crops*, 33(5): 106-111. [卢楠楠, 闫丽华, 郑崇珂, 等, 2017. 盐胁迫对水稻盐丰 47 和盐粳 456 生长和农艺性状的影响[J]. *作物杂志*, 33(5): 106-111.]
- MA SG, TIAN RR, HU H, et al., 2020. Comprehensive evaluation and selection of rice (*Oryza sativa japonica*) germplasm for saline tolerance at seedling stage[J]. *J Plant Genet Resour*, 21(5): 1089-1101. [马帅国, 田蓉蓉, 胡慧, 等, 2020. 粳稻种质资源苗期耐盐性综合评价与筛选[J]. *植物遗传资源学报*, 21(5): 1089-1101.]
- QIN H, LI YX, HUANG RF, 2020. Advances and challenges in the breeding of salt-tolerant rice[J]. *Int J Mol Sci*, 21(21): 8385.
- QU C, WU WP, YANG M, et al., 2018. Effects of ABA on physiological characteristics of rice at tillering stage under different irrigation methods[J]. *Mol Plant Breed*, 16(20): 6840-6846. [屈成, 吴旺斌, 杨漫, 等, 2018. ABA 对不同灌溉方式下水稻分蘖期生理特性的影响[J]. *分子植物育种*, 16(20): 6840-6846.]
- RAHNAMA A, JAMES RA, POUSTINI K, et al., 2010. Stomatal conductance as a screen for osmotic stress tolerance in durum wheat growing in saline soil[J]. *Funct Plant Biol*, 37 (3): 255-263.
- REN ZH, GAO JP, LI LG, et al., 2005. A rice quantitative trait locus for salt tolerance encodes a sodium transporter[J]. *Nat Genet*, 37(10): 1141-1146.
- SHEN J, WANG YG, GUO PY, et al., 2021. Effects of humic acid on Ascorbate-Glutathione cycle in the leaves of foxtail millet seedlings under drought stress[J]. *Crops*, 37(2): 173-177. [申洁, 王玉国, 郭平毅, 等, 2021. 腐植酸对干旱胁迫下谷子幼苗叶片抗坏血酸-谷胱甘肽循环的影响[J]. *作物杂志*, 37(2): 173-177.]
- SHI J, LIU DY, ZHANG FH, 2020. Physiological response and salt tolerance mechanism of cotton seedlings to salt stress[J]. *Acta Agric Zhejiang*, 32(7): 1141-1148. [石婧, 刘东洋, 张凤华, 2020. 棉花幼苗对盐胁迫的生理响应与耐盐机理[J]. *浙江农业学报*, 32(7): 1141-1148.]
- SRIPINYOWANICH S, KLOMSAKUL P, BOONBURAPONG B, et al., 2013. Exogenous ABA induces salt tolerance in indica rice (*Oryza sativa* L.): The role of *OsP5CS1* and *OsP5CR* gene expression during salt stress[J]. *Environ Exp Bot*, 86: 94-105.

- SUN SM, CHANG W, SONG FQ, 2020. Mechanism of arbuscular mycorrhizal fungi improve the oxidative stress to the host plants under salt stress: A review[J]. *J Appl Ecol*, 31(10): 3589-3596. [孙思淼, 常伟, 宋福强, 2020. 丛枝菌根真菌提高盐胁迫植物抗氧化机制的研究进展[J]. *应用生态学报*, 31(10): 3589-3596.]
- VAN ZELM E, ZHANG YX, TESTERINK C, 2020. Salt tolerance mechanisms of plants[J]. *Ann Rev Plant Biol*, 71(1): 403-433.
- WANG EX, ZHANG FL, SHANG DH, et al., 2016. Comparison of effects of seawater and NaCl stress on seed germination and seedling growth of rice[J]. *J Shandong Agric Sci*, 48(10): 54-57. [王恩旭, 张方亮, 商德虎, 等, 2016. 海水和 NaCl 胁迫对水稻种子萌发与幼苗生长影响的比较[J]. *山东农业科学*, 48(10): 54-57.]
- WANG HY, 2019. Physiological and gene mapping for salttolerance of sea rice 86[D]. Changsha: Hunan Normal University [汪洪艳, 2019. 海稻 86 耐盐机理及基因定位的研究[D]. 长沙: 湖南师范大学.]
- WANG JB, WANG HF, LIU HX, 2012. Study on mechanism of salicylic acid on the promotion of rice seeds germination under salt stress[J]. *Acta Agric Boreal-Sin*, 27(4): 223-227. [王俊斌, 王海凤, 刘海学, 2012. 水杨酸促进盐胁迫条件下水稻种子萌发的机理研究[J]. *华北农学报*, 27(4): 223-227.]
- WANG XM, ZHAO XX, HUANG LS, et al., 2018. The Na⁺ and K⁺ accumulative effect of four different salt tolerance genotypes in rice under salt stress[J]. *Chin J Trop Crops*, 39(11): 2140-2146. [王旭明, 赵夏夏, 黄露莎, 等, 2018. 盐胁迫下 4 个不同耐盐基因型水稻 Na⁺、K⁺ 积累效应[J]. *热带作物学报*, 39(11): 2140-2146.]
- WANG WL, 2014. New plant physiology experiment guide[M]. Beijing: Xinhua Publishing House: 83-146. [王文龙, 2014. 新编植物生理学实验指导[M]. 北京: 新华出版社: 83-146.]
- WANG Y, ZHANG R, LIU YH, et al., 2022. Rice response to salt stress and research progress in salt tolerance mechanism[J]. *Chin J Rice Sci*, 36(2): 105-117. [王洋, 张瑞, 刘永昊, 等, 2022. 水稻对盐胁迫的响应及耐盐机理研究进展[J]. *中国水稻科学*, 36(2): 105-117.]
- WANG ZJ, 2020. Study on the molecular mechanism of proline metabolism under stress of tea plant[D]. Hefei: Anhui Agricultural University. [汪忠杰, 2020. 茶树逆境胁迫下脯氨酸代谢的分子机制研究[D]. 合肥: 安徽农业大学.]
- WEI Z, ZOU Y, CHEN PJ, et al., 2021. Analysis on the difference of salt tolerance of different types of rice at budding stage[J]. *J Hunan Agric Univ (Nat Sci Ed)*, 47(3): 254-261. [魏征, 邹燕, 陈澎军, 等, 2021. 不同类型水稻芽期的耐盐性差异[J]. *湖南农业大学学报(自然科学版)*, 47(3): 254-261.]
- WU MM, ZENG W, ZHAI RR, YE J, et al., 2022. Research progress on molecular mechanism and breeding status of salt tolerance in rice[J/OL]. *Chin J Rice Sci*: 1-13. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/33.1146.S.20220402.1612.010.html>. [巫明明, 曾维, 翟荣荣, 等, 2022. 水稻耐盐分子机制与育种研究进展[J/OL]. *中国水稻科学*: 1-13. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/33.1146.S.20220402.1612.010.html>.]
- YAN JQ, GU YB, XUE ZY, et al., 2022. Different responses of rice materials to salt stress and the underlying mechanisms[J]. *Acta Agron Sin*, 48(6): 1463-1475. [颜佳倩, 顾逸彪, 薛张逸, 等, 2022. 耐盐性不同水稻品种对盐胁迫的响应差异及其机制[J]. *作物学报*, 48(6): 1463-1475.]

- YANG HT, 2019. Salt-water dynamic and regulation of saline-alkali alfalfa artificial grassland[D]. Changchun: Northeast Institute of Geography and Agroecology, University of Chinese Academy of Sciences. [杨洪涛, 2019. 盐碱化紫花苜蓿人工草地土壤水盐特征及优化调控[D]. 长春: 中国科学院大学(中国科学院东北地理与农业生态研究所).]
- ZHANG ZG, ZHANG Q, WU JX, et al., 2013. Gene knockout study reveals that cytosolic ascorbate peroxidase 2 (*OsAPX2*) plays a critical role in growth and reproduction in rice under drought, salt and cold stresses[J]. PLoS ONE, 8(2): e57472.